

钙离子指示剂选择指南

钙离子指示剂

现在广泛使用的钙离子指示剂有化学性钙离子指示剂（chemical indicators）和基因编码钙离子指示剂（genetically-encoded indicators）两类：

化学性钙离子指示剂

指的是可以螯合钙离子的小分子，所有这些小分子都基于 EGTA（乙二醇双四乙酸）的同系物 BAPTA（氨基苯乙烷四乙酸），BAPTA 能够特意地和钙离子螯合，而不会和镁离子螯合，所以被广泛地用作钙离子螯合剂。现在使用较广泛的化学性钙离子指示剂有：Oregon Green-1、Fura-2、Indo-1、Fluo-3、Fluo-4。

基因编码钙离子指示剂

这些指示剂是来自于绿色荧光蛋白（GFP）及其变异体（例如循环排列 GFP, YFP, CFP）的荧光蛋白质，与钙调蛋白（CaM）和肌球蛋白轻链激酶 M13 域融合。现在使用较广泛的基因编码钙离子指示剂有：GCaMP、Pericams、Cameleons、TN-XXL 和 Twitch，其中 GCaMP6 由于它有着超强的敏感度，现在被广泛应用于活体钙成像研究。

指示剂负载细胞的方法

目前有三种在神经元上填补钙离子指示剂的方法，均可利用于体内和体外研究。

- 1) 利用玻璃吸管将膜渗透性盐或葡聚糖形式的指示剂注入单个神经元，此方法便于控制单个神经元内的钙离子指示剂浓度，且信噪比较高；
- 2) 利用“批量加载”的方法将钙离子指示剂染料负载神经元，观察对象为一群神经元；虽然这种方法可能导致一些胶质细胞被指示剂标记，但大大提高了整体神经元的标记百分比；
- 3) 通过病毒转染的方式，使其基因编码钙离子指示剂。

实验操作步骤

- 1) 指示剂工作液配置，根据选择指示剂的要求配置工作液；
- 2) 指示剂稀释，根据实验调节需求进行稀释；
- 3) 指示剂孵育，将培养皿中原培养基弃去，加入指示剂孵育；
- 4) 清洗，弃去指示剂，用不含钙、镁离子的缓冲液清洗 3 次，每次 2-3 min，后加上相应的溶液进行拍摄；
- 5) 钙离子成像，使用普通荧光显微镜或激光共聚焦显微镜进行拍摄。

常用遗传编码钙离子指示剂（GECIs），见下表：

类别	名称	应用	参考文献
GCaMP6 系列	GCaMP6s	高敏感，适合低频信号的指示	PMID: 23868258
	GCaMP6m	结合活性适中，适用的范围最广	
	GCaMP6f	快速动力学曲线，解离最快，适合高频信号的指示	
jGCaMP7 系列	jGCaMP7s	高敏感，灵敏性可达 GCaMP6s 的 5 倍以上	PMID: 31209382
	jGCaMP7f	快速动力学，其反应速度是 GCaMP6s 的 3 倍，GCaMP6f 的 5 倍。适用于更强的检测单动作电位反应或群体活动实验。	
	jGCaMP7b	较亮的基线荧光，灵敏性是 GCaMP6s 的 3 倍。适用检测神经元突起或神经纤维。	
	jGCaMP7c	本底荧光低，对比度高，信号清晰，灵敏性是 GCaMP6s 的 2.7 倍。适用于大范围成像。	
GCaMP-X 系列	GCaMP6-Xc	精准特异且安全无损；适合超长时程（≥4 周）钙信号的监测。	PMID: 29666364
CaMPARI	CaMPARI	紫外光照后变色	PMID: 25678659
	CaMPARI2	第二代，紫外光照后变色	PMID: 30361563
jRGECO1a	jRGECO1a	激发光波长红移，可以同 GCaMP 一起使用。	PMID: 29731250
jRCaMP1	jRCaMP1a jRCaMP1b	激发光波长红移，可以同 GCaMP 一起使用。	PMID: 27011354
Axon-GCaMP		轴突定位	PMID: 30127424
XCaMP 系列	XCaMP-B	蓝色、绿色、橙色、红色。结合特定的神经元特异的表达方法，可实现在自由活动状态下同时监测特定行为中三种不同神经元类型的活动；结合双光子显微镜，进行微结构功能成像，实现对突触前和突触后结构同时双色成像。	PMID: 31080068

企业名称：布林凯斯生物技术有限公司

地址：中国·武汉经济技术开发区 华中智谷

Tel: +027-8439-6606 | E-mail: j.li@wiat.ac.cn